



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 199 33 704 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**A 61 K 33/00**

②① Aktenzeichen: 199 33 704.7  
②② Anmeldetag: 19. 7. 1999  
④③ Offenlegungstag: 25. 1. 2001

DE 199 33 704 A 1

⑦① Anmelder:  
Georgieff, Michael, Prof. Dr., 89081 Ulm, DE

⑦④ Vertreter:  
WUESTHOFF & WUESTHOFF Patent- und  
Rechtsanwälte, 81541 München

⑦② Erfinder:  
gleich Anmelder

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

- ⑤④ Verwendung einer lipophile Gase enthaltenden Präparation zur Neuroprotektion und Neuroregeneration
- ⑤⑦ Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung, die sich als neuroprotektives und/oder neuroregeneratives Mittel eignet.

DE 199 33 704 A 1

Die Erfindung betrifft die Verwendung einer flüssigen Präparation, die ein lipophiles Gas gelöst enthält, zur Neuroprotektion und Neuroregeneration.

Es ist allgemein bekannt, daß eine cerebrale Hypoxie/Ischämie eine pathophysiologische Kaskade auslöst, die zu Membran- und Zellzerstörung und schließlich zum Tod von Nervenzellen führt. Es wird allgemein diskutiert, daß bei dieser Kaskade die Aktivierung von NMDA- und nicht-NMDA-Rezeptoren eine wichtige Rolle spielt. Wenn nämlich diese Rezeptoren stimuliert werden durch hohe Glutamat- oder Aspartat-Konzentrationen, kommt es zu einer intrazellulären Akkumulierung von  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Ca}^{++}$ -Ionen und schließlich zu einem Aufquellen der Zellen. Am Ende dieser unerwünschten Kaskade steht dann der Zelltod. In der Forschung hat man sich insbesondere den sogenannten NMDA-Rezeptor-Antagonisten als potentiellen neuroprotektive Arzneimittel/Drogen zugewandt. So haben Studien erwiesen, daß Ketamin in großen Dosen verabreicht ein Neurodefizit vermindern kann. Die Verabreichung eines Bolus mit einer geringen Dosis erbrachte jedoch nicht die erwünschten Wirkungen. Bekannt ist auch, daß verletzte Neuronen eine verbesserte Überlebensrate haben und ein axonales Wachstum dann beobachtet wird, wenn man beispielsweise Ratten mit S(+)-Ketamin behandelt. Der klinische Einsatz von Ketamin wird jedoch häufig wegen der beträchtlichen Nebenwirkungen (z. B. erhöhter Blutdruck) nicht erwogen.

Der vorliegenden Erfindung liegt das Problem zugrunde, eine Präparation bereitzustellen, die eine neuroprotektive bzw. neuroregenerative Wirkung, aber nicht die Nebenwirkungen von Ketamin zeigt.

Dieses Problem wird durch eine wäßrige Lösung behoben, die gelöst ein lipophiles Gas enthält. Unter lipophilem Gas wird hier ein bei Standardbedingungen (Atmosphärendruck, 20°C) gasförmiges Molekül oder Verbindung verstanden, die eine gewisse Fettlöslichkeit hat. Ausdruck hierfür ist beispielsweise ein Öl/Gas-Koeffizient von > etwa 0,05 (Krypton, 0,5; Argon, 0,15; Lachgas, 1,4; Xenon, 1,9). Üblicherweise wird ein Öl wie n-Octanol zur Messung dieses Koeffizienten eingesetzt. Den lipophilen Charakter kann man auch über die sogenannte Ostwald-Löslichkeit (s. Gerald L. Pollak et al. in J. Chem. Phys. 90 (11), 1989, "Solubility of Xenon in 45 Organic Solvents Including Cycloalkanes, Acids and Alkanals: Experiment and Theory") erfassen. Die Ostwald-Löslichkeit für Xenon bei 25°C beträgt beispielsweise in n-Hexan 4,8. Unter lipophil im Sinne der vorliegenden Erfindung kann man alternativ ein solches Gas verstehen, daß eine Ostwald-Löslichkeit > etwa 1,0 in n-Hexan bei 25°C aufweist. Dieses lipophile Gas kann in sehr kleinen Konzentrationen vorliegen. Insbesondere im Falle von Xenon als lipophiles Gas tritt zusätzlich eine deutliche analgetische und anästhetische Wirkung in Erscheinung. Es wurde jetzt überraschenderweise festgestellt, daß eine intravasiv gegebene, flüssige Präparation einen neuroprotektiven und neuroregenerativen Effekt hat.

Die erfindungsgemäße Präparation wird insbesondere intravenös verabreicht, wobei es vorteilhaft ist, einen Bolus von 20–30 ml gefolgt von einer längeren Infusion bis zu mehreren Tagen mit einer Rate von 0,1–2 ml/min einzusetzen.

Als Modellfall für eine erfindungsgemäße Präparation wird eine wäßrige Fettemulsion angesehen, die gelöst Xenon mit Konzentrationen von 0,2–10 ml/ml der Präparation enthält (die Konzentrationsangabe bezieht sich hier auf die Standardbedingung: 20°C und Atmosphärendruck). Die Xenon-Konzentration in einer solchen Präparation hängt von

einer Vielzahl von Faktoren ab, insbesondere den Eigenschaften des Trägers. In der Regel wird man die erfindungsgemäßen Präparationen bis an die Sättigungsgrenze mit Xenon "beladen". Bei einer 10%igen Fettemulsion können ohne weiteres Xenon-Konzentrationen von 0,3–5 ml Xenon/ml Präparation erreicht werden. Diese Fettemulsionen sind zumindest in gasdicht verschlossenen Behältern hinreichend stabil, so daß das des Xenon während üblicher Lagerungszeiten nicht wieder als Gas freigesetzt wird. Darüber hinaus hat sich gezeigt, daß diese Emulsionen auch die übliche Hitzesterilisierung bei etwa 121°C überstehen.

Die Lipidphase der Präparation, die das Gas aufnimmt, d. h. lösen und/oder dispergieren kann, wird im wesentlichen durch sog. Fette gebildet, wobei es sich im wesentlichen um Ester von langkettigen und mittellangkettigen Fettsäuren handeln kann. Solche Fettsäuren, gesättigt oder ungesättigt, enthalten 8 bis 20 Kohlenstoffatome. Daneben können aber auch omega-3- oder omega-6-Fettsäuren eingesetzt werden, die bis zu 30 Kohlenstoffatome enthalten können. Als veresterte Fettsäuren bieten sich insbesondere pflanzliche Öle an, wie z. B. Baumwollsamöl, Sojabohnenöl, Distelöl, Fischöl und dgl. Hauptbestandteil dieser natürlich vorkommenden Öle sind die Triglyceride der Fettsäuren. Von besonderer Bedeutung sind Präparationen, die als sog. Öl-in-Wasser-Emulsionen vorliegen. Dabei macht der Fettanteil der Emulsion üblicherweise 5 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 10 bis 20 Gew.-% aus. Neben dem Fett ist aber in der Regel ein Emulgator vorhanden, wobei sich Sojaphosphatide, Gelatine oder auch Eiphsphatid bewährt haben. Solche Emulsionen können hergestellt werden, indem das mit Wasser nicht mischbare Öl in Gegenwart des Emulgators, in der Regel ein oberflächenaktives Mittel, in Wasser emulgiert wird. Neben dem Wasser können auch andere polare Lösemittel, wie beispielsweise Ethanol, Glycerin (Propylenglykol, Hexylenglykol, Polyethylenglykol, Glykolmonoether, ein mit Wasser mischbarer Ester, etc.) vorhanden sein. Das Edelgas kann bereits in einer vorausgehenden Verfahrensstufe in die Lipidphase eingebracht worden sein. Im einfachsten Fall bietet sich aber an, die fertiggestellte Emulsion mit dem Xenon zu beladen. Dies kann bei unterschiedlichen Temperaturen erfolgen, beispielsweise bei Temperaturen von 1°C bis zu Raumtemperatur. Hierbei ist es zuweilen hilfreich, das Gefäß, in dem sich die Emulsion befindet, mit einem Druck von beispielsweise bis zu 8 Atmosphären oder darüber zu beaufschlagen.

Erfindungsgemäß lassen sich Fettemulsionen einsetzen, wie sie bei der intravenösen Ernährung zum Einsatz kommen. Diese Fettemulsionen bestehen im wesentlichen aus einer geeigneten Fettgrundlage (Sojabohnenöl oder Sonnenblumenkernöl) und einem gutverträglichen Emulgator (Phosphatide). Allgemein gebräuchliche Fettemulsionen sind Intralipid®, Intrafat®, Lipofundin®S und Liposyn®. Genauere Angaben zu diesen Fettemulsionen kann man G. Kleinberger und H. Pamperl, Infusionstherapie, 108–117 (1983) 3, entnehmen. Die Fettemulsionen enthalten im allgemeinen noch Zusätze, welche die Osmolarität der wäßrigen Phase, die die in Form von Liposomen vorliegende Fettphase umgibt, blutisoton machen. Hierzu kann man Glycerin und/oder Xylit verwenden. Darüber hinaus ist es häufig sinnvoll, der Fettemulsion ein Antioxidationsmittel zuzugeben, um eine Oxidation der ungesättigten Fettsäuren zu verhindern. Hierfür eignet sich insbesondere Vitamin E (DL-Tocopherol).

Als Lipidphase besonders vorteilhaft, insbesondere bei einer Öl-in-Wasser-Emulsion, sind sog. Liposomen, die sich aus den oben erwähnten Triglyceriden aber auch allgemein aus sog. Phospholipidmolekülen bilden lassen. Diese Phospholipidmoleküle bestehen im allgemeinen aus einem was-

serlöslichen Teil, der durch mindestens eine Phosphatgruppe gebildet wird, und einem Lipidteil, der sich von einer Fettsäure bzw. deren Ester ableitet.

In der US-A-5 334 381 wird im Detail erläutert, wie man Liposomen mit Gas beladen kann. Ganz allgemein gesprochen wird eine Vorrichtung mit den Liposomen gefüllt, d. h. mit einer Öl-in-Wasser-Emulsion, und dann wird die Vorrichtung mit dem Gas darin unter Druck gesetzt. Dabei kann die Temperatur bis auf 1°C abgesenkt werden. Unter Druck löst sich das Gas allmählich auf und gelangt in die Liposomen. Bei einer Entspannung des Drucks kann es dann zur Ausbildung von kleinen Gasblasen kommen, die aber jetzt von den Liposomen eingekapselt werden. Somit ist es praktisch möglich, beispielsweise Xenongas oder andere Gase unter hyperbaren Bedingungen in einer Fettemulsion zu halten. Auch solche Präparationen können erfindungsgemäß verwendet werden, solange es nicht zur Ausbildung einer separaten Gasphase außerhalb der Liposomen kommt und vorausgesetzt, daß die angestrebte pharmakologische Wirkung eintritt.

Die Lipide, die die Liposomen ausbilden, können von natürlicher oder synthetischer Herkunft sein. Solche Materialien sind beispielsweise Cholesterol, Phosphatidylcholin, Phosphatidyl-ethanolamin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylinositol, Sphingomyelin, Glycosphingolipide, Glucolipide, Glycolipide, usw. Die Oberfläche der Liposomen kann weiterhin mit einem Polymer modifiziert sein, beispielsweise mit Polyethylenglycol.

Eine Lipidemulsion mit einem lipophilen Gas kann beispielsweise die folgenden Bestandteile enthalten:

5-20 g Sojabohnenöl (10 g)  
5-30 g Triglyceride der C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>-Fettsäuren (beispielsweise Miglyol® der Hüls AG, Marl, Deutschland) (10 g)  
0,5-2 g Ei-Lecithin (1,2 g)  
1-3 g Glycerol (2,5 g)  
0-0,1 g (0,03 g) Natriumoleat  
Rest Wasser auf 100 ml.

Eine solche Präparation läßt sich ohne weiteres wie zuvor beschrieben mit 10-100 ml und darüber des lipophilen Gases beladen. Beispielsweise kann man so vorgehen, daß man zunächst das lipophile Gas wie beispielsweise Xenon in einer Mischung aus Sojabohnenöl und Fettsäuretriglyceriden auflöst und dann im Anschluß die Ölphase mit der wäßrigen Phase (die die anderen Bestandteile enthält) vermischt und schließlich emulgiert. Eine Emulsion kann unter anderem mittels eines Homogenisators erreicht werden. Dadurch erhält man Öltröpfchen einer Größe < 1 µm (Durchmesser), wobei der größte Teil des lipophilen Gases dann in den Öltröpfchen vorliegt (80-99%). Eine solche Emulsion läßt sich ohne weiteres hitzesterilisieren und bei Temperaturen zwischen 4 und 25°C länger lagern. Vorteilhaft ist es, wenn man bei der Herstellung der Präparation unter eine Atmosphäre des lipophilen Gases, beispielsweise Xenon, arbeitet. Darüberhinaus sind auch rein wäßrige Lösungen einsetzbar, wobei es sich anbietet, diesen Lösungen Substanzen zuzusetzen, die die Auflösung des Xenons in der Präparation erleichtern. Häufig haben gerade bereits die zuvor beschriebenen, allgemein bekannten Lokalanästhetika diese Eigenschaft, da sie einen lipophilen Rest aufweisen. Ein anderes Beispiel für eine Verbindung, die die Auflösung des lipophilen Gases insbesondere in wäßrigen Lösungen fördert ist unter anderem Vitamin E bzw. davon abgeleitete Tocopherole oder Komplexbildner, wie die in der EP-A-0357163 beschriebenen Cavitate oder Clathrate.

ein lipophiles Gas enthält, zur Herstellung eines neuroprotektiven oder neuroregenerativen Mittels.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das lipophile Gas Xenon ist.

#### Patentansprüche

1. Verwendung einer flüssigen Präparation, die gelöst

- Leerseite -